

## Клетки MLE-12 | 305314

## Обща информация

## Description

MLE-12 е миша белодробна епителна клетъчна линия, създадена от дистален респираторен епител с помощта на трансгенни мишки, експресиращи големия туморен антиген на симиански вирус 40 (SV40) под контрола на човешкия промотор на сърфактантния протеин С (SP-C). Тази клетъчна линия се характеризира със способността си да поддържа определени свойства на алвеоларните клетки от тип II, като например експресията на сърфактантните протеини SP-B и SP-C, които са от решаващо значение за синтеза на белодробен сърфактант и белодробната функция. Клетките MLE-12 също така показват ключови морфологични характеристики на алвеоларните клетки тип II, включително микровили и мултиверикларни тела, въпреки че в по-късните пасажи им липсват някои характеристики като ламеларни тела.

Клетъчната линия MLE-12 се използва широко за изследване на регулацията на сърфактантните протеини, секрецията и белодробните реакции към стимули. Тя отделя фосфолипиди в отговор на различни секретогени, като АТФ и форболови естери, имитирайки аспекти на функцията на алвеоларни клетки тип II. Въпреки че тази секреция е силна в ранните пасажи, тя намалява в по-късните пасажи, заедно с промените в рецепторно-медираните отговори. Този модел е особено ценен за изследване на механизмите, лежащи в основата на синдромите на респираторен дистрес и дефицита на сърфактант. Освен това клетъчната линия предлага поглед върху белодробната канцерогенеза, като се има предвид, че е получена от SV40-ориентирана туморогенеза.

Клетките MLE-12 служат като инструмент за изясняване на пътищата за обработка на сърфактантните протеини и за тестване на терапевтични стратегии за заместване на сърфактанта. Поддържането на експресия на SP-C, маркер, специфичен за алвеоларния епител, ги прави подходящ *in vitro* модел за изследване на специфични за белия дроб процеси и заболявания.

**Organism** Мишка

**Tissue** Бял дроб

**Disease** Нормален

**Synonyms** MLE 12, MLE12, Murine Lung Epithelial-12

## Характеристики

**Breed/Subspecies** FVB/N-Tg(SFTPC-TAg)5.1Jaw трансгенни

**Age** 5 месеца

**Gender** Жена

**Morphology** Подобни на епител

**Клетки MLE-12 | 305314****Cell type** Епителна клетка**Growth properties** Придържачи се**Регулаторни данни****Citation** MLE-12 (каталожен номер 305314 на Cytion)**Biosafety level** 1**NCBI\_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL\_3751**GMO Status** GMO-S1: Тази линия от белодробни епителни клетки на мишки (MLE-12) съдържа конструкт SV40 Т-Антиген, въведен чрез трансфекция, който подпомага имортализацията на първични белодробни епителни клетки. Вложката е стабилно интегрирана. Тази класификация се прилага само в Германия и може да се различава в други страни.**Биомолекулярни данни****Protein expression** Експресирани гени: белодробни повърхностноактивни протеини В, С (SP-B, SP-C)**Tumorigenic** Да, при голи мишки**Viruses** Трансформатор: Simian virus 40 (SV40)**Работа с****Culture Medium** DMEM, w: 4,5 g/L глюкоза, w: 4 mM L-глутамин, w: 3,7 g/L NaHCO<sub>3</sub>, w: 1,0 mM натриев пируват (номер на изделието на Cytion 820300a)**Supplements** Допълнете средата с 10% FBS**Dissociation Reagent** Accutase

## Клетки MLE-12 | 305314

### Subculturing

Отстранете старата среда от адхезивните клетки и ги промийте с PBS, която не съдържа калций и магнезий. За колби T25 използвайте 3-5 ml PBS, а за колби T75 - 5-10 ml. След това покрийте клетките изцяло с Accutase, като използвате 1-2 ml за колби T25 и 2,5 ml за колби T75. Оставете клетките да се инкубират на стайна температура за 8-10 минути, за да се отделят. След инкубацията внимателно разбъркайте клетките с 10 ml среда, за да ги ресуспендирайте, след което центрофугирайте при 300xg за 3 минути. Изхвърлете супернатантата, ресуспендирайте клетките в прясна среда и ги прехвърлете в нови колби, които вече съдържат прясна среда.

### Fluid renewal

2 пъти седмично

### Freeze medium

Като среда за криоконсервация използваме пълна среда за растеж (включително FBS) + 10% DMSO за адекватна жизнеспособност след размразяване или CM-1 (каталожен номер 800100 на Cytion), която включва оптимизирани осмопротектори и метаболитни стабилизатори за подобряване на възстановяването и намаляване на криоиндуцирания стрес.

**Клетки MLE-12 | 305314****Thawing and  
Culturing Cells**

1. Уверете се, че флаконът остава дълбоко замразен при доставката, тъй като клетките се транспортират със сух лед, за да се поддържат оптимални температури по време на транспортирането.
2. При получаване или съхранявайте незабавно криовиолата при температури под  $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ , за да осигурите запазване на клетъчната цялост, или преминете към стъпка 3, ако е необходимо незабавно култивиране.
3. За незабавно култивиране бързо размразете флакона, като го потопите във водна баня с чиста вода и антимицробен агент с температура  $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ , като разбърквате внимателно в продължение на 40-60 секунди, докато остане малка ледена бучка.
4. Извършвайте всички следващи стъпки при стерилни условия в аспиратор, като преди отваряне дезинфекцирате криовиолата със 70% етанол.
5. Внимателно отворете дезинфекцирания флакон и прехвърлете клетъчната суспензия в 15 ml центрофужна епруветка, съдържаща 8 ml хранителна среда със стайна температура, като разбърквате внимателно.
6. Центрофугирайте сместа при  $300\text{ x g}$  в продължение на 3 минути, за да отделите клетките, и внимателно изхвърлете супернатантата, съдържаща остатъчна замразяваща среда.
7. Внимателно ресуспендирайте клетъчната пелета в 10 ml прясна хранителна среда. За адхезивни клетки разделете суспензията между две колби T25; за суспензионни култури прехвърлете цялата среда в една колба T25, за да стимулирате ефективното взаимодействие и растеж на клетките.
8. Придържайте се към установените протоколи за субкултивиране за непрекъснат растеж и поддържане на клетъчната линия, като гарантирате надеждни експериментални резултати.

**Incubation  
Atmosphere**

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$ , 5%  $\text{CO}_2$ , овлажнена атмосфера.

**Flask Coating**

Няма

**Freezing  
Procedure**

Криоконсервираните клетъчни линии се транспортират върху сух лед във валидирана, изолирана опаковка с достатъчно хладилен агент, за да се поддържа приблизително  $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$  по време на транспортирането. При получаването незабавно прегледайте опаковката и незабавно прехвърлете флаконите за подходящо съхранение.

## Клетки MLE-12 | 305314

### Shipping Conditions

Криоконсервираните клетъчни линии се транспортират върху сух лед във валидирана, изолирана опаковка с достатъчно хладилен агент, за да се поддържа приблизително  $-78^{\circ}\text{C}$  по време на транспортирането. При получаването незабавно прегледайте опаковката и незабавно прехвърлете флаконите за подходящо съхранение.

### Storage Conditions

За дълготрайно съхранение поставете флаконите в течен азот в парна фаза при температура около  $-150$  до  $-196^{\circ}\text{C}$ . Съхранението при  $-80^{\circ}\text{C}$  е приемливо само като кратък междинен етап преди прехвърлянето в течен азот.

## Контрол на качеството / Генетичен профил / HLA

### Sterility

Замърсяването с микоплазма се изключва както чрез PCR-базирани анализи, така и чрез луминесцентни методи за откриване на микоплазма.

За да се гарантира, че няма бактериално, гъбично или дрождево замърсяване, клетъчните култури се подлагат на ежедневни визуални проверки.